

TENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

HAYASE, Kenichi
 Hayase & Co. Patent Attorneys
 8F, Esaka ANA Building
 17-1, Enoki-cho
 Suita-shi
 Osaka 564-0053
 JAPON



Date of mailing (day/month/year)
 15 November 2001 (15.11.01)

Applicant's or agent's file reference
 P25363-PO

IMPORTANT NOTICE

International application No.
 PCT/JP01/03840

International filing date (day/month/year)
 08 May 2001 (08.05.01)

Priority date (day/month/year)
 08 May 2000 (08.05.00)

Applicant

MATSUSHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD. et al

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this notice:
 KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:
 CN,EP

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
 15 November 2001 (15.11.01) under No. WO 01/86300

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II).

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and the PCT Applicant's Guide, Volume II.

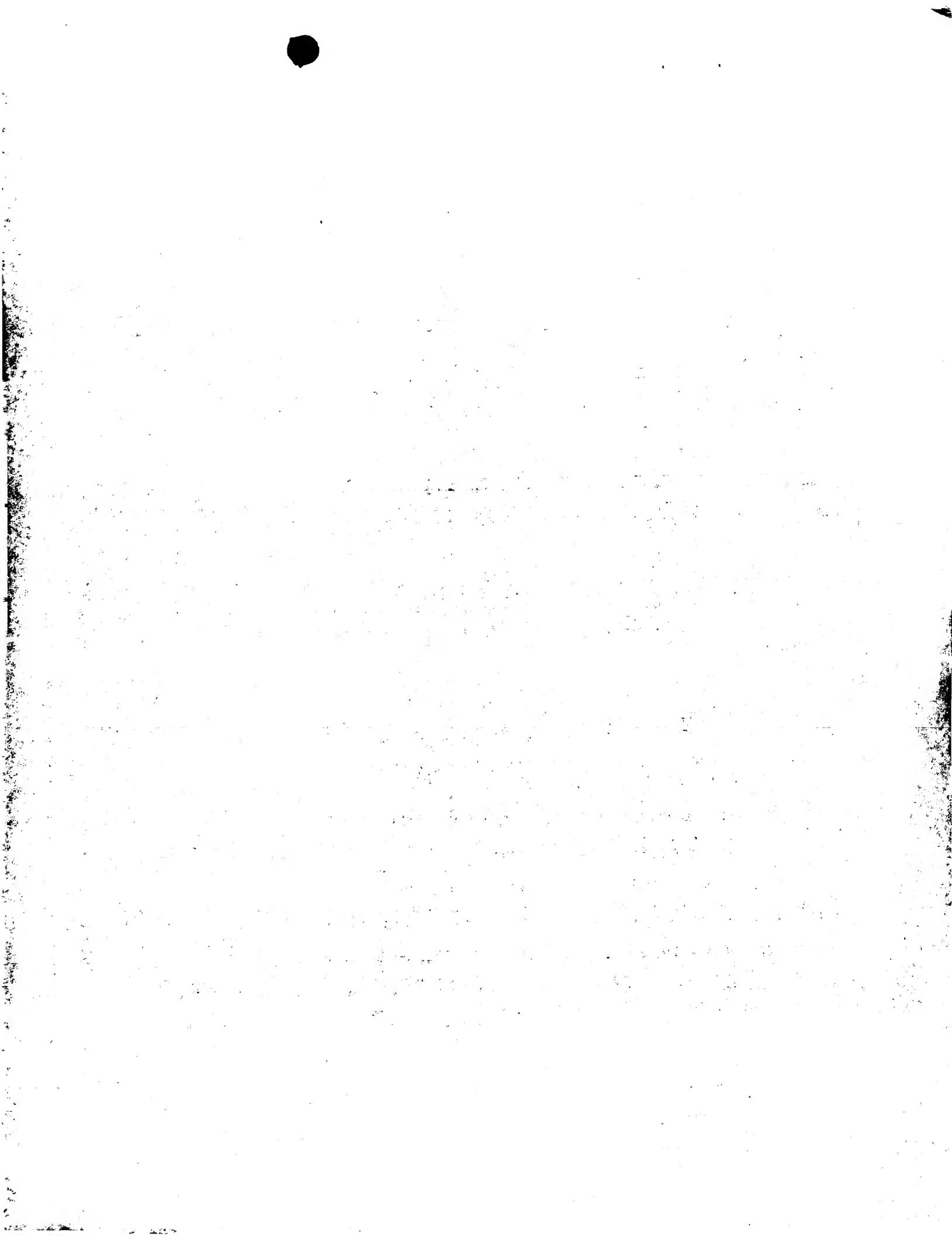
The International Bureau of WIPO
 34, chemin des Colombettes
 1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer

J. Zahra

Telephone No. (41-22) 338.91.11



PATENT COOPERATION TREATY



NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

Date of mailing (day/month/year)
16 July 2001 (16.07.01)

Applicant's or agent's file reference
P25363-PO

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/JP01/03840

International filing date (day/month/year)
08 May 2001 (08.05.01)

International publication date (day/month/year)
Not yet published

Priority date (day/month/year)
08 May 2000 (08.05.00)

Applicant

MATSUSHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD. et al

1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
3. An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
4. The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
08 May 2000 (08.05.00)	2000-134342	JP	22 June 2001 (22.06.01)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Taïeb Akremi

Telephone No. (41-22) 338.83.38



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/03840

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl' G01N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl' G01N33/543

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1992-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2001
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2001 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 8-334511 A (Terametsukusu K.K.), 17 December, 1996 (17.12.96) (Family: none)	1-5
A	JP 10-274653 A (Sanko Junyaku K.K.), 13 October, 1998 (13.10.98) (Family: none)	1-5

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
16 July, 2001 (16.07.01)Date of mailing of the international search report
24 July, 2001 (24.07.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2001年11月15日 (15.11.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/86300 A1

(51) 国際特許分類: G01N 33/543

(21) 国際出願番号: PCT/JP01/03840

(22) 国際出願日: 2001年5月8日 (08.05.2001)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願2000-134342 2000年5月8日 (08.05.2000) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 松下電器産業株式会社 (MATSUSHITA ELECTRIC INDUSTRIAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒571-8501 大阪府門真市大字門真1006番地 Osaka (JP).

(72) 発明者: および

(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 瀧岡正剛 (NADAOKA, Masataka) [JP/JP]; 〒799-3113 愛媛県伊

予市米湊819-5 Ehime (JP). 高橋三枝 (TAKAHASHI, Mie) [JP/JP]; 〒792-0026 愛媛県新居浜市久保田町2-13-1 Ehime (JP). 田中宏橋 (TANAKA, Hirotaka) [JP/JP]; 〒791-1102 愛媛県松山市来住町533-1-102 Ehime (JP).

(74) 代理人: 弁理士 早瀬憲一 (HAYASE, Kenichi); 〒564-0053 大阪府吹田市江の木町17番1号 江坂全日空ビル8階 早瀬特許事務所 Osaka (JP).

(81) 指定国(国内): CN, KR, US.

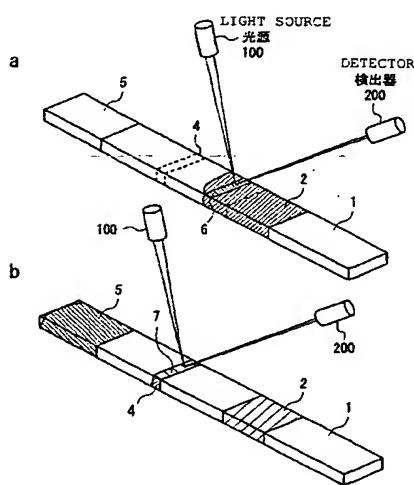
(84) 指定国(広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(54) Title: METHOD OF MEASUREMENT IN CHROMATOGRAPHY

(54) 発明の名称: クロマトグラフィー測定方法



(57) Abstract: A method for measurement for use in a chromatography using a biosensor, characterized in that the amount of a labeled reagent which actually participates in the reaction in question is measured in a labeled reagent measuring region (6), the reaction of the reagent with a substance for measurement in a solution to be tested is measured in a reaction result measuring region (7), and the above amount of the reagent is reflected to the result obtained through the measurement in the region (7). The method allows a measurement having higher accuracy and higher reliability in a chromatography using a biosensor, which is markedly reduced in the adverse effects of environmental factors, factors derived from the properties of a solution to be tested, wrong operations in measurement, and the like.

WO 01/86300 A1

[統葉有]



(57) 要約:

標識試薬測定領域 6 において、測定に関与する実質の標識試薬量を測定し、被検査溶液中の測定対象物との反応を測定する反応結果測定領域 7 で得られた結果に対して、前記実質の標識試薬量を反映させる。

これにより、外的環境要因、被検査溶液の性質における要因、測定操作における誤操作等、の影響を排除し、より高精度、高信頼性を有するバイオセンサを用いたクロマトグラフィー測定方法を提供することができる、

明細書

クロマトグラフィー測定方法

5 技術分野

本発明は、クロマトグラフィー測定方法に関するものであり、特に、クロマトグラフィーを利用したバイオセンサにより、被検査溶液の測定を行う方法の改良を図ったものに関する。

10 背景技術

バイオセンサは、抗体、酵素等のもつ特異的反応を利用したもので、体液等の被検査溶液中の測定成分を検出することにより、臨床分野等に向けての応用が可能となるものである。

そして、このようなバイオセンサによって検出された被検査溶液（試料）中の測定成分を、クロマトグラフィーを利用して定性的もしくは定量的に測定する代表例として、イムノ（免疫）クロマトセンサがある。このイムノクロマトセンサは、被検査溶液を展開する展開層を備え、前記展開層はその一部に試薬が固定化された試薬部分と、他の一部に被検査溶液展開により溶出可能な標識試薬が乾燥状態で保持された標識試薬保持部分とを含み、被検査溶液を展開した時に前記試薬固定化部分において結合が生じ、その結合量を測定することにより、被検査溶液中の測定成分を測定できるものである。

このイムノクロマトセンサの一般的なものとしては、被検査溶液を添加する被検査溶液添加部分と、複数の展開層とで構成され、前記展開層の一部である試薬固定化部分に抗体が固定化され、また、前記展開層の前記試薬固定部分よりも上流側にある標識試薬保持部分に、金コロイド粒子等の標識物によって標識された抗体が前記被検査溶液により溶出可能な乾燥状態で保持されている。

このようなイムノクロマトセンサに被検査溶液を必要量添加すると、被検査溶液が前記標識された抗体を溶出しながら多孔質材料中に浸透していく。そして、前記被検査溶液により溶出された標識抗体が、前記試薬固定化部分において、該

標識固定化部分の抗体と結合した標識抗体量を測定することにより、被検査液中の測定成分を検出できる。また、その結合した標識抗体量の測定は、試薬固定部分に標識抗体が結合することにより残留する金コロイド粒子等の標識物の量を目視で確認することにより測定可能となっている。即ち、被検査溶液に含まれる抗原（測定成分）の濃度に応じて、前記試薬固定化部分の呈色度（色の濃さ）が変化するので、検査者がこれを目視することで、測定が可能となる。

なお、ここでは、抗原抗体反応のサンドイッチ反応を測定原理とした場合を述べたが、その他競合反応を測定原理としても同様に、抗体固定化部における標識試薬の結合状態で測定結果が得られる。

また、前述した例では測定結果を目視で定性判定により得る場合について述べたが、この目視による判定の再現性の低さや個人差を改善するために、試験片の前記試薬固定化部分の呈色度をCCDで撮像して自動判定する方法が、特開平8-334511号公報に記載されている。また、前記測定結果として半定量もしくはそれよりも精度の高い判定が必要とされる場合には、特開平10-274624号公報に示される、光学的な読みとり装置を用いて透過方式により読みとる方法や、特開平10-274653号公報に示される、カメラ等で画像として取り込み、演算処理する方法がある。

しかしながら、上述したような、従来の被検査溶液内の測定対象物の測定方法では、前記センサの乾燥状態、センサ中の試薬の保存状況、あるいはセンサ作製時の環境によるセンサ中の試薬濃度誤差、等により生じる要因や、被検査溶液の性質により生じる要因や、測定時における誤操作、あるいは測定時の環境等によって生じる要因等により、前記被検査溶液によって標識試薬保持部分から溶出する標識抗体の溶出量が変化してしまう。

そして、前記試薬固定化部分に前記標識抗体が溶出してくることで結合される標識抗体結合量は、前記標識抗体の溶出量が一定であれば、前記被検査溶液中の測定対象物濃度をより正確、かつ均一に測定することができるが、前記要因により標識抗体の溶出量が変化すると、前記被検査溶液中の測定対象物濃度が一定であったとしても、測定毎に試薬固定化部分に結合する標識抗体量は変化することになる。

つまり、定性の測定結果を求める測定を実施するときに、前記要因によって標識抗体の溶出量に変化が生じた場合は、特に測定限界高感度付近において誤った測定結果を与えててしまう、という問題があった。

また、前記標識抗体の溶出量が極端に少ない場合には、前記試薬固定化部分に
5 おいて正確な結合量が得られない、という問題もあった。

さらに、半定量性や定量性の測定が必要とされる測定を実施する場合についても、前記要因による標識抗体の溶出量の変化によって、試薬固定化部分の標識抗体結合量に変化が生じ、精度が低い測定結果しか得られない、という問題があった。このため、上述の方法では、定性または半定量測定を実施するのが限界であ
10 り、定量測定を実現できるものではなかった。

本発明は、このような状況に鑑みてなされたものであり、より高精度な測定結果が得られ、定量測定においてもその精度を向上できるクロマトグラフィー測定方法を提供することを目的とする。

15 発明の開示

本発明の請求の範囲第1項に記載のクロマトグラフィー測定方法は、被検査溶液を展開する展開層と、前記展開層の一部に、試薬を固定化することにより形成された試薬固定化部と、前記展開層の他の一部に、前記被検査溶液の展開によつて溶出可能に標識試薬を保持することにより形成された標識試薬保持部と、を備
20 えるバイオセンサを用いて、前記被検査溶液に含まれる測定成分をクロマトグラフーを利用して測定するクロマトグラフィー測定方法において、前記試薬固定化部における前記標識試薬の結合量を測定することにより、前記被検査溶液中の測定成分を定性もしくは定量するとともに、前記標識試薬成分の溶出量もしくは溶出されなかつた残存量を測定するものである。

25 このことにより、前記試薬固定化部における前記標識試薬結合量により、被検査溶液内の測定対象物の検出をする場合において、その結合量に影響を及ぼす前記標識成分の実質的な溶出量もしくは残量を測定することにより、固定化における前記標識試薬成分結合量の妥当性（結合量データの信頼性）を知ることを可能にし、測定操作の正確性を向上させる効果があり、また、前記溶出量、もしくは

残存量を計測することにより、前記試薬固定化部分における前記標識試薬成分の結合量に対して、溶出量に応じた補正を加えることで、実際の測定に関与した前記標識試薬成分量を反映させることができが可能になり、より高精度な、バイオセンサを用いたクロマトグラフィー測定方法が実現できるという効果が得られる。

5 本発明の請求の範囲第2項に記載のクロマトグラフィー測定方法は、請求の範囲第1項に記載のクロマトグラフィー測定方法において、前記試薬固定化部における前記標識試薬の結合量を、前記標識試薬成分の溶出量もしくは溶出されなかった残存量を用いて補正するものである。

10 このことにより、実際の測定に関与した前記標識試薬成分量を反映させることができが可能になり、より高精度な、バイオセンサを用いたクロマトグラフィー測定方法が実現できるという効果が得られる。

15 本発明の請求の範囲第3項に記載のクロマトグラフィー測定方法は、請求の範囲第1項または請求の範囲第2項に記載のクロマトグラフィー測定方法において、前記標識試薬成分の溶出量もしくは溶出されない残存量の測定は、光学的な検出器を用いるものである。

このことにより、前記標識試薬成分の溶出量をより正確に数値化することが可能となり、より高精度な、バイオセンサを用いたクロマトグラフィー測定方法が実現できるという効果が得られる。

20 本発明の請求の範囲第4項に記載のクロマトグラフィー測定方法は、請求の範囲第1項ないし請求の範囲第3項のいずれかに記載のクロマトグラフィー測定方法において、前記標識試薬成分の溶出量の測定は、前記試薬固定化部以外の部分において行うものである。

25 このことにより、測定対象成分量に影響を受けない、試薬固定化部以外の部分で、前記標識試薬成分溶出量を測定して、より正確な標識試薬溶出量を測定でき、より高精度な、バイオセンサを用いたクロマトグラフィー測定方法が実現できるという効果が得られる。

本発明の請求の範囲第5項に記載のクロマトグラフィー測定方法は、請求の範囲第1項ないし請求の範囲第4項のいずれかに記載のクロマトグラフィー測定方法において、前記標識試薬成分の溶出量の測定は、前記試薬固定化部において前

記標識試薬の結合量を測定するよりも前に行うものである。

このことにより、前記試薬固定化部において生じる結合に関する標識試薬量をあらかじめ知ることができ、測定操作の正確性を高めるとともに、より迅速な判断を可能にし、より高精度な、バイオセンサを用いたクロマトグラフィー測定

5 方法が実現できるという効果が得られる。

図面の簡単な説明

第1図は、本発明の実施の形態1における、イムノクロマトセンサの構成を示す斜視図である。

10 第2図は、本発明の実施の形態1のイムノクロマトセンサにおける、被検査溶液添加後の状態を示す図であり、第2(a)図は、被検査溶液を添加してから初期の状態を示し、第2(b), (c)図は、標識試薬結合量測定時の状態を示すものである。

15 第3図は、本発明の実施の形態1のクロマトグラフィー測定方法における、バイオセンサの測定すべき領域の順序の一例を示す斜視図であり、第3(a)図は最初に測定すべき領域を示す図であり、第3(b)図は次に測定すべき領域を示す図である。

第4図は、本発明の実施の形態1におけるバイオセンサにより測定したhCGの各濃度における吸光度 $A_T + B_T$ と、吸光度 C_T との関係を示す図である。

20 第5図は、本発明の実施の形態1におけるバイオセンサにより測定した各hCG濃度における補正前の測定結果(第5(a)図)と補正後の測定結果(第5(b)図)とを示す図である。

25 第6図は、本発明の実施の形態1のクロマトグラフィー測定方法における、バイオセンサの測定すべき領域の順序の他の例を示す斜視図であり、第6(a)図は最初に測定すべき領域を示す図であり、第6(b)図は次に測定すべき領域を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

実施の形態1.

以下に、本発明の実施の形態1について、第1図ないし第6図を用いて説明する。

第1図は、本発明の実施の形態1によるクロマトグラフィー測定方法を実施する際に使用する、イムノクロマトセンサの構成を示した図である。

5 第1図において、本実施の形態1のイムノクロマトセンサは、被検査溶液を添加する被検査溶液添加部1、標識試薬保持部2と抗体固定化部4（試薬固定化部）とを含む抗体固定化膜3（展開層）、及び吸水部5で構成されるものである。

前記被検査溶液添加部1は、被検査溶液を添加する部分であり、被検査溶液が湿潤可能な材料である不織布からなる。この被検査溶液添加部1に用いる材料と
10 しては、不織布以外でも、被検査溶液が湿潤可能な材料であれば、ガラス纖維濾紙、メンブレンフィルタ等、任意の材料を用いて構成できる。

また、前記標識試薬保持部2は、抗体固定化膜3の一部分において、標識試薬を保持する部分である。この標識試薬は、標識物である金コロイドにより標識された抗体であり、前記被検査溶液の浸透によって溶出可能なように乾燥状態で保
15 持されている。本実施の形態1においては、前記標識試薬として、金コロイドにより標識された抗体を使用しているが、前記標識物としては、金コロイド以外にも、酵素、タンパク質、色素、蛍光色素、金属ゾル、非金属ゾル、ラテックスなどの着色粒子等が選択可能であり、また、該標識物により標識される試薬としては、抗体以外に、抗原、ハプテン、タンパク質等でも同様に実施可能である。

20 また、前記抗体固定化部4は、抗体固定化膜3の前記標識試薬保持部2以外の
一部分において、抗体を乾燥状態で固定して保持する部分である。この抗体は、被検査溶液によって溶出するものではなく、被検査溶液により溶出されてくる前記標識試薬保持部2の標識試薬と結合する性質を有するものである。そのため、前記抗体固定化部4の抗体は、該抗体固定化部4において、前記標識試薬を結合
25 捕捉することができる。

なお、本実施の形態1におけるイムノクロマトセンサでは、サンドイッチ反応を用いる場合、つまり標識試薬保持部2に抗体を設置し、被検査溶液中の測定対象物を抗原とするものについて例示するが、競合反応を用いる場合は、被検査溶液中の測定対象物を抗原とし、標識試薬保持部2に抗原を設置することにより実

施可能であり、またその他、抗原抗体反応を用いる場合も、使用者の選択により様々なパターンで、同様に実施可能である。

前記抗体固定化膜3は、前記標識試薬保持部2と抗体固定化部4とを含み、ニトロセルロースで構成される。この抗体固定化膜3に用いられる材料は、ニトロセルロース以外にも、被検査溶液が湿潤可能な材料であれば、同様に実施できる。

また、前記吸水部5は、前記抗体固定化膜3を通過した被検査溶液を吸収するものであり、ガラス纖維濾紙からなる。この吸水部5の材料としては、ガラス纖維濾紙以外でも、不織布、樹脂多孔質材料等、被検査溶液が湿潤可能な材料であれば任意の材料で構成可能である。

本実施の形態1では、このように構成されたイムノクロマトセンサに、被検査溶液を滴下して、前記抗体固定化膜3上を展開させ、前記標識試薬保持部2から溶出する前記標識試薬の溶出量、もしくは溶出した後の該標識試薬保持部2上の残量を検知することで、測定操作の正確性を向上させ、さらには前記抗体固定化部4における前記標識試薬の結合量に対して、標識試薬の溶出量に応じた補正を加えて、実際の測定に関与した前記標識試薬量を反映させることが可能になり、より高精度に、前記被検査溶液に含まれる測定対象を測定可能なクロマトグラフィー測定方法を実現するものである。

以下、本実施の形態1におけるイムノクロマトセンサで、被検査溶液に含まれる測定対象物を検出するクロマトグラフィー測定方法について説明する。

第2図は、被検査溶液添加部1に被検査溶液を添加した後のイムノクロマトセンサの状態を示している。

第2(a)図は、被検査溶液を被検査溶液添加部1に添加して経過時間が比較的早い時点でのイムノクロマトセンサの状態を示し、図において、6は標識試薬溶出量を測定する領域を示している。第2(a)図において、被検査溶液添加部25 1に添加された被検査溶液は、標識試薬保持部2の標識試薬を溶出しながら吸水部5に向かって浸透を開始し、この時点では、被検査溶液により溶出された標識試薬は抗体固定化部4には到達していない。

第2(b)図は、抗体固定化部4において標識試薬結合量を測定する時点でのイムノクロマトセンサの状態を示し、図において、7は抗体固定化部4における

標識試薬結合量の測定領域を示す。第2 (b) 図では、抗体固定化膜3を通過した被検査溶液が吸水部5に吸収され、抗体固定化部4では、被検査溶液中の測定対象物量に応じた反応が見られる。

第2 (c) 図は、第2 (b) 図と同時点でのイムノクロマトセンサの状態を示すものであり、図において、8は標識試薬溶出残量を測定する領域を示す。

このように、標識試薬成分の溶出量の測定を前記抗体固定化部4以外の部分において行うのは、前記抗体固定化部4では、被検査溶液中の測定対象物の量によって標識試薬結合量が変化してしまうため、測定開始後一定時間を区切って標識試薬を読みとろうとした場合に、その値が測定対象物の結合反応に起因するもの 10 なのか、起因しないものなのかを判断できないからである。

また、標識試薬溶出量の測定を、前記抗体固定化部4における前記標識試薬の結合量を測定するよりも前に（上流側で）行うのは、測定操作において被検査溶液を添加した後、被検査溶液は抗体反応膜3上を展開していくが、前記抗体固定化部4を通過する前に標識試薬保持部2を通って、前記標識試薬成分を溶出させるため、測定部分である前記抗体固定化部4を前記標識試薬が通過する前に、その標識試薬溶出量を前もって測定しておけば、前記抗体固定化部4において結合した標識試薬量の測定に、迅速に反映することが可能となるからである。 15

なお、この様な迅速な補正を行わなくても差し支えない場合は、前記抗体固定化部4上である標識試薬結合量測定領域7で標識試薬量を測定した後、その値に第2 (c) 図の状態における標識試薬溶出残量測定領域8で得られた測定値を反映させる方法もある。 20

以下に、本実施の形態1による、バイオセンサを使用したクロマトグラフィー測定方法の具体例として、尿中のhCG（ヒト総毛性性腺刺激ホルモン）の定量を例にとり、第1図ないし第6図を用いて、本実施の形態1におけるクロマトグラフィー測定方法についてさらに詳細に説明する。なお、本実施の形態1の測定方法は、hCGの定量に限定されるものではない。 25

まず、本実施の形態1の試験片（イムノクロマトセンサ）として、ニトロセルロース膜中に、抗hCG- β 抗体固定化ラインと、抗hCG- α 抗体と金コロイドとの複合体の広いバンドと、を含む免疫クロマトグラフィー試験片を製造した。

上記試験片は、第1図に示すように、抗hCG- β 抗体を固定化した抗体固定化部4と、それよりも前（上流側）にある抗hCG- α 抗体と金コロイドとの複合体が含有された標識試薬保持部2とを含むニトロセルロース膜からなる抗体固定化膜3と、不織布からなる被検査溶液添加部1と、ガラス繊維からなる吸水部5とで構成されるものである。

本実施の形態1は、hGC溶液を、第1図に示す上記試験片に添加し、反射型分光光度計（CS9300；島津製作所）により、第3（a）図に示すように、標識試薬溶出量測定領域6に光源100から検査光を照射してその反射光を検出器200で受光することで、標識試薬溶出量測定領域6の反射吸光度を測定し、10次に、第3（b）図に示すように、標識試薬結合量測定領域7の反射吸光度を、第3（a）図と同様に反射型分光光度計により測定し、さらに、標識試薬溶出量測定領域6の吸光度を用いて標識試薬結合量測定領域7の吸光度の補正を行うという、補正方法を使用したものである。

以下、A.試験片の作成方法、B.被検査溶液の調製方法、C.補正方法の検討、15について説明する。

A. クロマトグラフィー試験片の作成

リン酸緩衝溶液にて希釈して濃度調製をした抗hCG- β 抗体溶液を準備した。この抗体溶液を溶液吐出装置を用いて、ニトロセルロース膜上に塗布した。これにより、ニトロセルロース膜上に検出用の抗体固定化ライン（抗体固定化部4）20が得られた。このニトロセルロース膜を乾燥した後、1%スキムミルクを含有するTris-HCl緩衝溶液中に浸漬して30分間緩やかに振った。30分後、Tris-HCl緩衝溶液槽に膜を移動し、10分間緩やかに振った後に、別のTris-HCl緩衝溶液槽にてさらに10分間緩やかに振り、膜の洗浄を行った。2度洗浄を行った後に、膜を洗浄液から取り出して、室温で乾燥させた。

25 金コロイドは、0.01%塩化金酸の還流中の100°C溶液に1%クエン酸溶液を加えることによって調製した。還流を30分間続けた後に、冷却した。0.2Mの炭酸カリウム溶液によって、pH9に調製した前記金コロイド溶液に、抗hCG- α 抗体を加えて数分間攪拌した後に、10%BSA（牛血清アルブミン）溶液pH9を最終1%になる量だけ加えて攪拌することで、抗体金コロイド複合

体（標識抗体）を調製した。前記標識抗体溶液を4°C、20000Gで50分間遠心分離することによって、標識抗体を単離して、それを洗浄緩衝液（1%BSA・リン酸緩衝液）中に懸濁した後に、前記遠心分離を行って、標識抗体を洗浄単離した。この標識抗体を洗浄緩衝液で懸濁して、0.8μmのフィルタにて濾過した後に、当初の金コロイド溶液量の10分の1に調製して、4°Cで貯蔵した。

前記標識抗体溶液を溶液吐出装置にセットして、抗hCG-β抗体が固定化乾燥膜上の抗体固定化部分から離れた位置に塗布した後に、膜を乾燥させた。これによって、抗体固定化膜3上に標識抗体保持部（標識試薬保持部）2が得られた。

こうして調製された、抗体固定化ライン4、標識抗体保持部2を含む抗体固定化膜3を、反応層担体支持体（図示せず）上に貼付け、不織布を被検査溶液添加部1として、またガラス繊維ろ紙を吸水部5として、付け加えてから0.5cm幅の細片に切断して、試験片を作製した。

B. 被検査溶液の調製

ヒト尿中に既知濃度のhCG溶液を加えることにより、さまざまな既知濃度のhCG溶液を調製した。

C. 補正方法の検討

以下に、標識試薬結合量測定時間を5分後とし、標識試薬溶出量測定時間を、1分後、3分後とした場合の、反射吸光度を使用した補正方法について説明する。

補正を行なうには、予めデバイス（試験片）固有の係数を求めていることが必要である。まず、作製したデバイスの係数を求めるために、hCG濃度1000IU/1を含有する尿を調製し、試験片（試験片数N=10）の被検査溶液添加部1に200μl以上添加する。前記被検査溶液添加時をスタート時間として、測定開始1分後、3分後における、標識試薬溶出量測定領域6の反射吸光度を反射型分光光度計（CS9300；島津製作所製）を用いて計測した。そして、5分後に標識試薬結合量測定領域7の呈色状況を前記同様反射型分光光度計を用いて計測した。標識試薬溶出量測定領域6における1分後の吸光度を吸光度A_T、3分後の反射吸光度を吸光度B_T、標識試薬結合量測定領域7における計測結果を吸光度C_Tとして、その測定結果をプロットし、以下に示す関係式（1）を導き出した。この測定結果は、第4（b）図に示されるものである。

$$Y = 1.12X + D \quad (\text{但し、} X = A_T + B_T \text{である。}) \quad \cdots (1)$$

ここで、Yは標識試薬結合量測定領域7の吸光度であり、第4図では縦軸である。また、Xは標識試薬溶出量測定領域6の吸光度の和を示し、第4図では横軸である。また、Dは定数である。

5 次に、標識試薬溶出量測定領域6の測定結果の中心値を求める。本実施の形態1の例では全測定の中心値は0.29であった。

この様にして、デバイス（バイオセンサ）固有の係数、E = 1.12、F = 0.29を得た。このデバイス固有の係数Eは標識試薬溶出量測定領域6と標識試薬結合量測定領域7における吸光度の関係式の傾きであり、またFは標識試薬溶出量測定領域6で得られた吸光度の中心値である。

次に、ヒト尿中に既知濃度のhCG溶液を加えることにより、100、1000、10000IU/1のhCGを含有する尿を調製し、該3種類の濃度既知の被検査溶液を用いて、本実施の形態1のクロマトグラフィー測定方法で測定を行い、補正前の測定値と補正後の測定値とを比較する。

15 まず、各hCG濃度の尿に対して試験片上の被検査溶液添加部1に前記hCGを含む尿を200μl以上添加して、吸水部5方向へと展開させ、測定を開始する。被検査溶液添加時をスタート時間として、開始1分後、3分後の、標識試薬溶出量測定領域6の反射吸光度を反射型分光光度計（CS9300；島津製作所製）を用いて計測した。その後、5分後の標識試薬結合量測定領域7の呈色状況を、前記同様反射型分光光度計を用いて計測した。標識試薬溶出量測定領域6における1分後の吸光度を吸光度A_T、3分後の反射吸光度を吸光度B_T、標識試薬結合量測定領域7における5分後の計測結果を吸光度C_Tとする。

第4図は、被検査溶液中の測定対象物であるhCG各濃度における吸光度A_Tと吸光度B_Tの和と、吸光度C_Tの関係を示す図である。第4（a）図はhCG濃度100IU/1、第4（b）図はhCG濃度1000IU/1、第4（c）図はhCG濃度10000IU/1の場合の吸光度A_Tと吸光度B_Tの和と、吸光度C_Tとの関係を示している。第4（a）図ないし第4（c）図より、hCG各濃度において吸光度A_Tと吸光度B_Tの和と、吸光度C_Tに相関があることがわかる。

次に、上記測定結果、及び前記デバイスの係数を使用して、以下の式（2）を用いて標識試薬結合量測定領域7の計測結果における吸光度 C_T の補正を行い、補正值 C_H を求める。

$$\text{補正值 } C_H = C_T \times (1 - ((A_T + B_T) - F \times E)) \quad \cdots (2)$$

5 ここで C_H は補正結果を示す。

第5図は、各hCG濃度における標識試薬結合量測定領域7の、補正前測定データと補正後測定データを示す図である。第5（a）図は、補正前である第4図の結果をhCG各濃度ごとにプロットしなおした図で、第5（b）図は、前記第4図で示した測定結果に式（2）を用いて補正した後の測定結果をhCG各濃度10 ごとにプロットした図である。

補正前のhCG同一濃度内のCV値（変動係数）はそれぞれ、11.1%、10.8%、13.8%であるが、補正によりCV値（変動係数）はそれぞれ、8.9%、4.1%、1.9%となり、全濃度領域とも大幅に測定値の精度が向上していることがわかる。これにより補正を実施することにより、測定値の精度が飛躍的に向上し、標識試薬成分の溶出量に変化が生じたとしても、hCG濃度が同一であれば測定値は変動の影響をあまり受けなくなり、定量精度が大幅に向上することがわかる。

なお、以上の説明では、標識試薬溶出量を測定して補正を行う場合について詳細に説明したが、標識試薬の残量を計測して補正を行う場合は、第3図と同様の反射型分光光度計により、先に標識試薬結合量測定領域7の反射吸光度を求め（第6（a）図参照）、次に標識試料溶出残量測定領域8の反射吸光度を求めて（第6（b）図参照）、該標識試料溶出残量測定領域8の反射吸光度で標識試薬結合量測定領域7の反射吸光度の補正を行った後、上述の標識試薬溶出量計測の場合と同様にしてデバイス固有の値を算出し、これを用いて、式（2）により補正を行う25 ようにすればよい。

以上のように本実施の形態1のクロマトグラフィー測定方法によれば、センサの乾燥状態、センサの中の試薬成分の保存状況、センサ作製時の温度、湿度、作製時間等の外的状況、等のセンサ部における要因、または、被検査溶液の性質における要因、測定操作における誤操作、測定操作時の環境等、測定操作における

要因等により、標識試薬成分の溶出量に変化が生じた場合においても、その標識試薬の溶出量もしくは残量を検知することで、測定操作の正確性を向上させることができ可能になり、また、前記溶出量、もしくは残量を計測することにより、前記試薬固定化部における前記標識試薬成分の結合量に対して、溶出量に応じた補正を加えることで、より高精度なクロマトグラフィ測定方法を提供できる。

なお、本実施の形態1では、第1図に示すような試験片を用いた場合の補正方法の一例について説明したが、試験片の形状は第1図のものに限定されるものではなく、適宜選択可能である。

また、前記デバイス固有の値E、Fは、標識試薬保持濃度、標識試薬保持面積、標識試薬保持量、標識試薬種類、流速、試料溶媒種、標識試薬保持領域と固定化試薬との位置等の要因で変化するものであり、必要に応じて適宜選択可能である。

その他、溶出量の計測方法、溶出量測定領域の場所、補正演算式などの選択など、必要に応じて適宜選択可能である。

15 産業上の利用可能性

本発明のクロマトグラフィー測定方法は、試薬固定化部における標識試薬の結合量を測定して被検査溶液の測定成分を定性もしくは定量する場合に、より高精度な測定結果を得る方法として有用である。

請求の範囲

1. 被検査溶液を展開する展開層と、前記展開層の一部に、試薬を固定化することにより形成された試薬固定化部と、前記展開層の他の一部に、前記被検査溶液の展開によって溶出可能に標識試薬を保持することにより形成された標識試薬保持部と、を備えるバイオセンサを用いて、前記被検査溶液に含まれる測定成分をクロマトグラフィーを利用して測定するクロマトグラフィー測定方法において、

前記試薬固定化部における前記標識試薬の結合量を測定することにより、前記被検査溶液中の測定成分を定性もしくは定量するとともに、

前記標識試薬成分の溶出量もしくは溶出されなかった残存量を測定する、ことを特徴とするクロマトグラフィー測定方法。

2. 請求の範囲第1項に記載のクロマトグラフィー測定方法において、前記試薬固定化部における前記標識試薬の結合量を、前記標識試薬成分の溶出量もしくは溶出されなかった残存量を用いて補正する、ことを特徴とするクロマトグラフィー測定方法。

3. 請求の範囲第1項または請求の範囲第2項に記載のクロマトグラフィー測定方法において、

前記標識試薬成分の溶出量もしくは溶出されない残存量の測定は、光学的な検出器を用いる、

ことを特徴とするクロマトグラフィー測定方法。

4. 請求の範囲第1項ないし請求の範囲第3項のいずれかに記載のクロマトグラフィー測定方法において、

前記標識試薬成分の溶出量の測定は、前記試薬固定化部以外の部分において行う、

ことを特徴とするクロマトグラフィー測定方法。

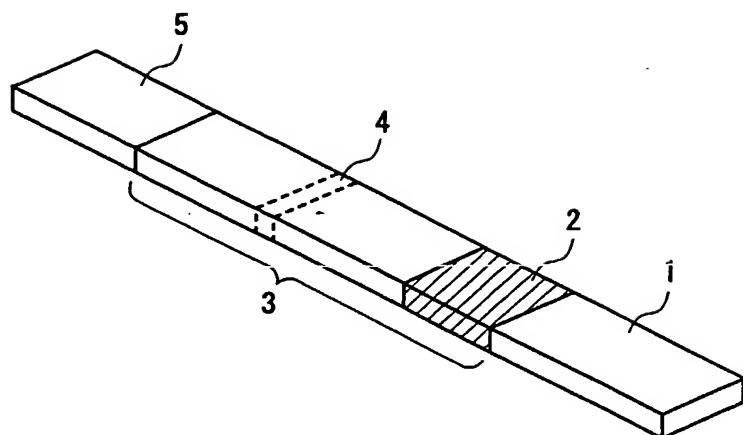
5. 請求の範囲第1項ないし請求の範囲第4項のいずれかに記載のクロマトグラフィー測定方法において、

前記標識試薬成分の溶出量の測定は、前記試薬固定化部において前記標識試薬

の結合量を測定するよりも前に行う、
ことを特徴とするクロマトグラフィー測定方法。

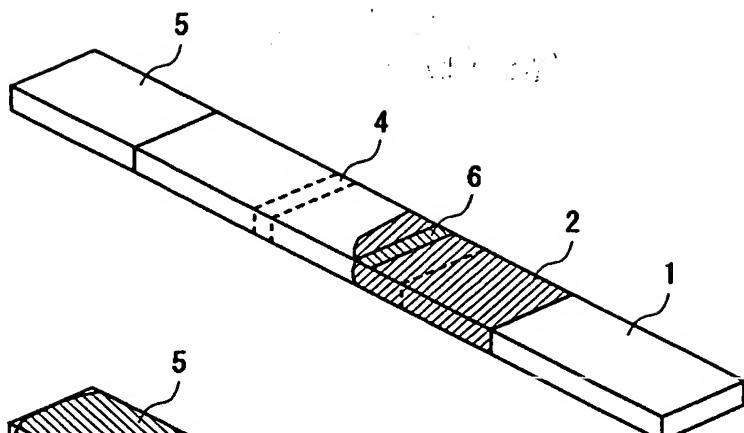
THIS PAGE BLANK (USPTO)

第1図

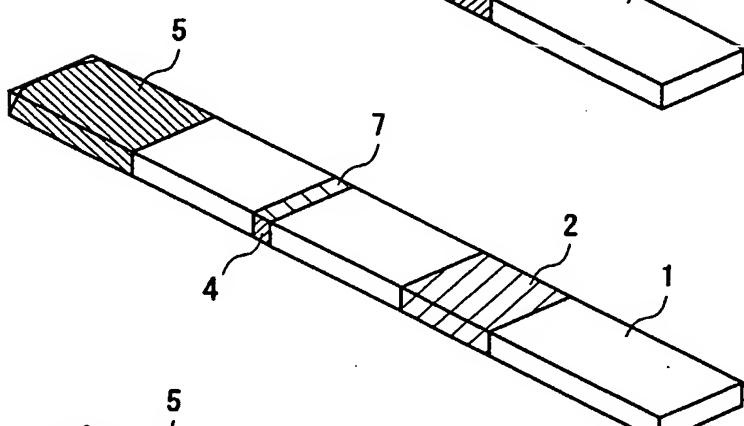


THIS PAGE BLANK (USPTO)

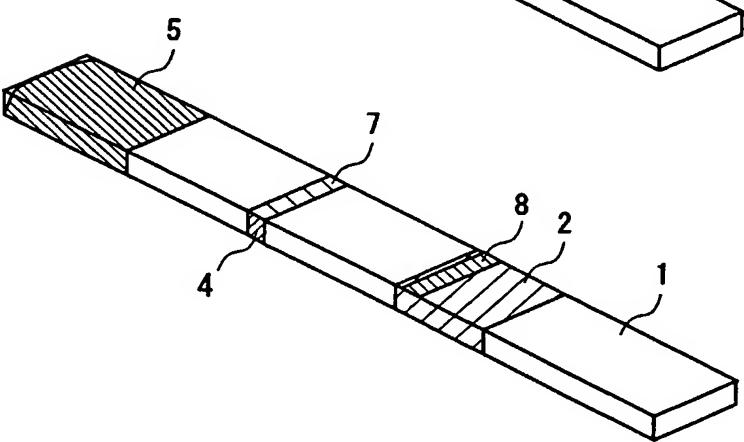
第2(a)図



第2(b)図

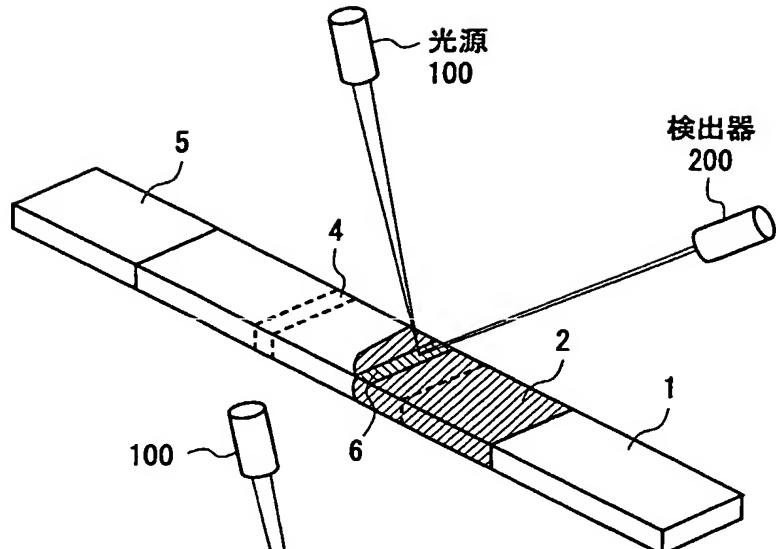


第2(c)図

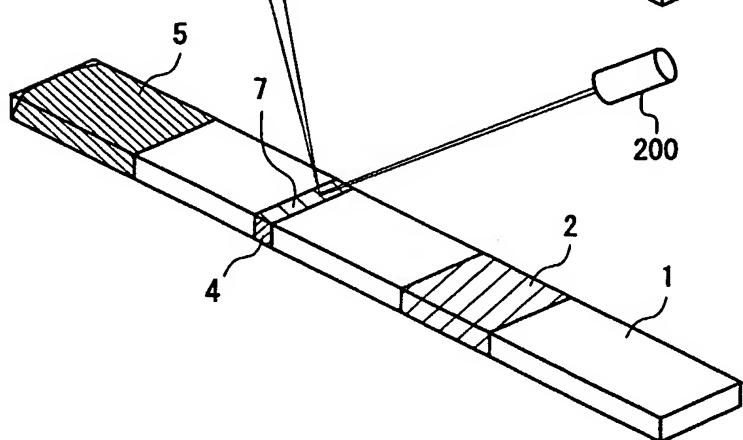


THIS PAGE BLANK (USPTO)

第3(a)図



第3(b)図

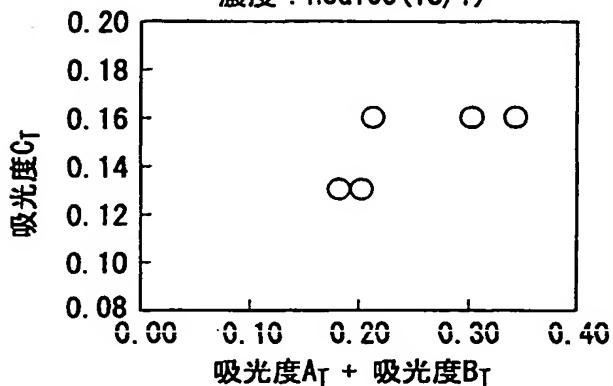


THIS PAGE BLANK (USPTO)

4/6

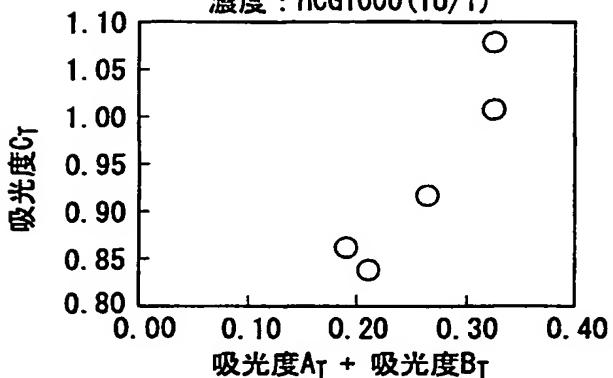
第4(a)図

標識試薬溶出量検査領域と
結合量検査領域における吸光度の関係
濃度 : hCG100 (IU/l)



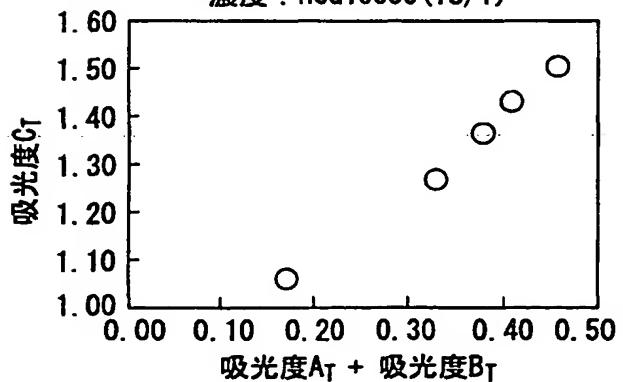
第4(b)図

標識試薬溶出量検査領域と
結合量検査領域における吸光度の関係
濃度 : hCG1000 (IU/l)



第4(c)図

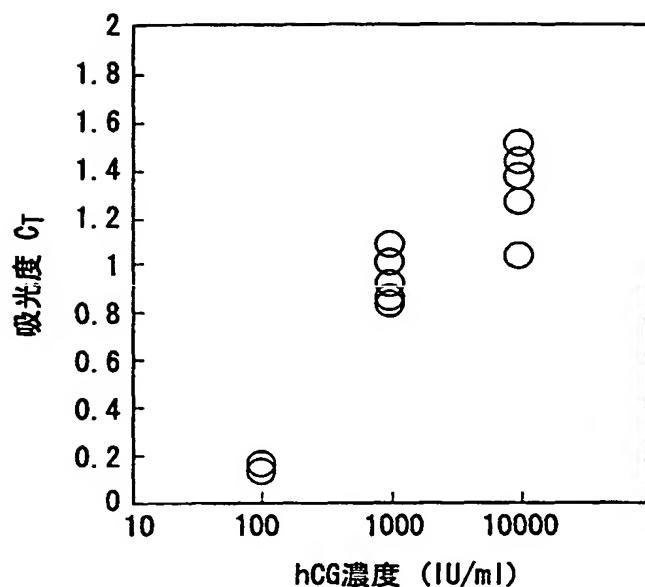
標識試薬溶出量検査領域と
結合量検査領域における吸光度の関係
濃度 : hCG10000 (IU/l)



THIS PAGE BLANK (USPTO)

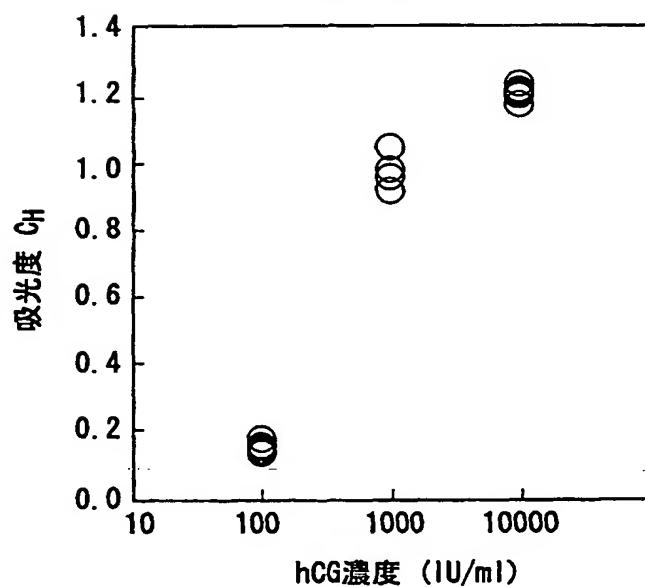
第5(a)図

補正前測定データ



第5(b)図

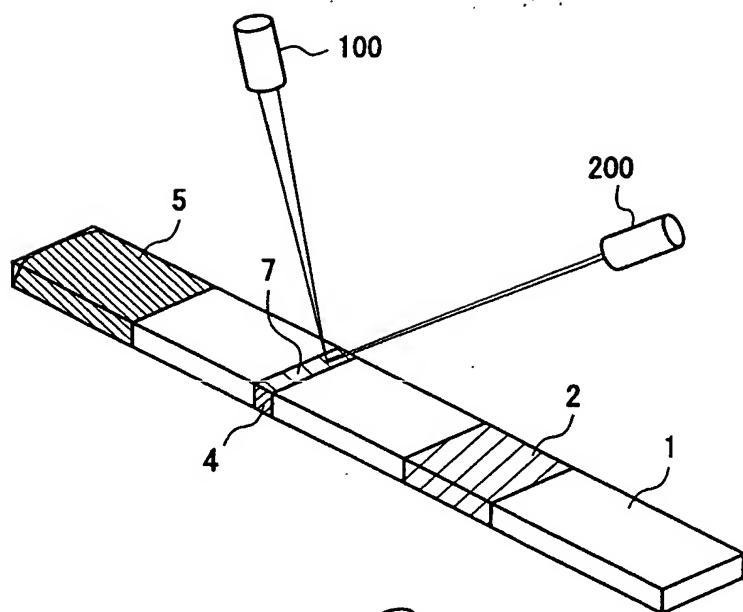
補正後データ



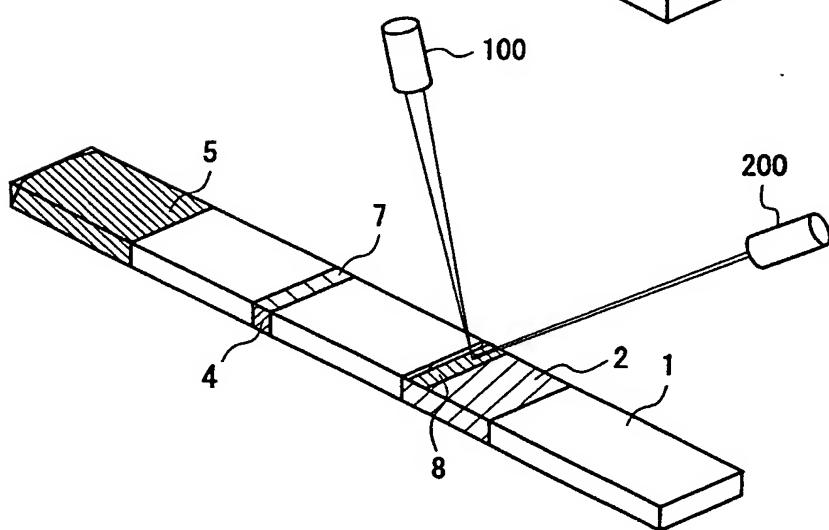
THIS PAGE BLANK (USPTO)

6/6

第6(a)図



第6(b)図



THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP01/03840

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N33/543

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N33/543

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1992-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2001
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2001 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2001

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 8-334511 A (Terametsukusu K.K.), 17 December, 1996 (17.12.96) (Family: none)	1-5
A	JP 10-274653 A (Sanko Junyaku K.K.), 13 October, 1998 (13.10.98) (Family: none)	1-5

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
16 July, 2001 (16.07.01)Date of mailing of the international search report
24 July, 2001 (24.07.01)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl' G01N33/543

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl' G01N33/543

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1992-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2001年
日本国登録実用新案公報	1994-2001年
日本国実用新案登録公報	1996-2001年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリーエ	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 8-334511 A (テラメックス株式会社) 17. 12月. 1996 (17. 12. 96) (ファミリーなし)	1-5
A	JP 10-274653 A (三光純薬株式会社) 13. 10月. 1998 (13. 10. 98) (ファミリーなし)	1-5

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリ

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 07. 01

国際調査報告の発送日

24.07.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

亀田 宏之

2 J
自
記

9015

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

THIS PAGE BLANK (USPTO)

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 P 2 5 3 6 3 - P O	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP01/03840	国際出願日 (日.月.年) 08.05.01	優先日 (日.月.年) 08.05.00
出願人(氏名又は名称) 松下電器産業株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。
 この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。
 この国際出願に含まれる書面による配列表
 この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表
 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. 発明の單一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は 出願人が提出したものを承認する。

次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は 出願人が提出したものを承認する。

第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1ヶ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、
第 3 図とする。 出願人が示したとおりである。

なし

出願人は図を示さなかった。

本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. C17 G01N33/543

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. C17 G01N33/543

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1992-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2001年
日本国登録実用新案公報	1994-2001年
日本国実用新案登録公報	1996-2001年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP 8-334511 A (テラメックス株式会社) 17. 12月. 1996 (17. 12. 96) (ファミリーなし)	1-5
A	JP 10-274653 A (三光純薬株式会社) 13. 10月. 1998 (13. 10. 98) (ファミリーなし)	1-5

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

16. 07. 01

国際調査報告の発送日

24.07.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

亀田 宏之



2 J

9015

電話番号 03-3581-1101 内線 3252

THIS PAGE BLANK (USPTO)